

KINOLIN-SZÁRMAZÉKOK ÉS ALKALMAZÁSUK TUMORELLENES SZEREKKÉNT
ÉS EZÉKET TARTALMAZÓ GYÓGYÁSZATI KÉSZÍTMÉNYEK

KIVONAT

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

- 5 A találmány tárgyát az (I) általános képletű vegyületek és gyógyászati szempontból elfogadható sóik képezik – a képletben Y jelentése F, Cl, Br, metil- vagy metoxycsoport. A találmány szerinti vegyületek hatásos tumorelLENES szerek. A találmány tárgyát képezi még az (I) általános képletű vegyületeket vagy sóikat tartalmazó gyógyászati készítmények, ~~az (I) általános képletű vegyületek előállítására hasznos~~
- 10 ~~köztitermékek~~, továbbá terápiás eljárások, amelyek az (I) általános képletű vegyület vagy sói erre szoruló emlősnek való adagolásában állnak.

PK

jelemező ábra: (I) általános képlet

A2

100086-8091- GÁ/Ko

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

**KINOLIN-SZÁRMAZÉKOK ÉS ALKALMAZÁSUK TUMORELLENES SZEREKKÉNT ÉS
EZEKET TARTALMAZÓ GYÓGYSZARTI KÉSZÍTMÉNYEK**

Az US 4 629 493 számú szabadalmi leírásban az (A) általános képletű herbi-
5 cid vegyületeket ismertetik – a képletben A jelentése $-CH=$ vagy $-N=$; X jelentése
halogénatom, n értéke 0, 1 vagy 2; R^1 jelentése hidrogénatom vagy rövid szénláncú
alkilcsoport és R^2 jelentése $-OH$, egyéb jelentések között. Ezen vegyületek egyikét
kereskedelmi forgalomban árusítják egynyári és évelő fűféle gyomnövények szabá-
lyozására széleslevelű haszonnövényekben. Ez a bizonyos vegyület a (B) általános
10 képletnek megfelelő.

Corbett és munkatársai [Investigational New Drugs, 16, 129 – 139 (1998)]
kinoxalin-vegyületek sorozatát értékelték egerekben lévő szilárd tumorok elleni akti-
vításuk tekintetében. A (C) általános képletű (a fenti anterioritásban XK469-ként hi-
vatkozott) vegyületről azt írták le, hogy széleskörű aktivitással bírnak transzplantál-
15 ható egértumorokkal szemben. A vegyületről azt is leírták, hogy viszonylag gyenge
hatású, és hogy néhány nem-kívánt mellékhatással bír, mint a paralitikus ileusz, GI-
epiteliális károsodás, csontvelő-toxicitás, neuromuszkuláris toxicitás és fogyás. Nap-
jainkban szükség van további tumorelleses szerekre.

A következőkben a találmányt összegezzük

20 A találmány hatásos tumorelleses szerekként alkalmas vegyületeket nyújt.
Ennek megfelelően a találmány tárgyát képezik az (I) általános képletű vegyületek
- a képletben Y jelentése F, Cl, Br, metil- vagy metoxicsoport –, valamint ezek gyó-
gyászati szempontból elfogadható sói.

A találmány tárgyát képezi továbbá egy terápiás eljárás tumorsejtek emlősök-
25 ben való szaporodásának gátlására, amely abban áll, hogy az ilyen kezelésre szo-
ruló emlősnek a találmány szerinti vegyület hatásos mennyiségét adagoljuk.

A találmány tárgyát képezi egy olyan terápiás eljárás is, amely emlősökben
lévő rák kezelésére szolgál, és abban áll, hogy az ilyen kezelésre szoruló emlősnek
a találmány szerinti vegyület hatásos mennyiségét adagoljuk.

30 A találmány tárgyát képezi továbbá a találmány szerinti vegyületek gyógyá-
szati terápiában való alkalmazása is.

A találmány tárgya még a találmány szerinti vegyületek alkalmazása emlősökben lévő rák kezelésére szolgáló gyógyszer előállítására.

A következőkben röviden ismertetjük az ábrákat

5 Az 1. ábrán racém 21b vegyület (2. reakcióvázlat) és a 21b vegyület R-enantiomerjének HPLC elválasztását mutatjuk be Chirobiotic T 250 x 4,6 mm-es oszlop és 65 % H₂O, 35 % CH₃OH, 20 mmol/liter NH₄NO₃ alkalmazásával, 1 ml/perc áramlási sebességgel, 250 nm-nél történő detektálással.

A következőkben részleteiben ismertetjük a találmányt

10 Szakember számára nyilvánvaló, hogy azok a találmány szerinti vegyületek, amelyek királis centrummal bírnak, optikailag aktív és racém formákban létezhetnek, és izolálhatóak. Bizonyos vegyületek polimorfizmust mutatnak. A találmány felöleli a találmány szerinti vegyületek mindazon racém, optikailag aktív, polimorf vagy sztereoizomer formáját vagy ezek elegyeit, amelyek az itt leírt hasznos tulajdonságokkal bírnak. Szakember számára nyilvánvaló, milyen módon kell az optikailag aktív for-
15 mákat előállítani (például a racém forma átkristályosítási eljárásokkal történő rezolválásával, optikailag aktív kiindulási anyagokból történő szintézissel, királis szintézissel vagy királis stacioner fázis alkalmazásával végrehajtott kromatográfiás eljárásokkal), valamint az is, hogyan kell a tumorelles aktivitást az itt leírt standard vizsgálati eljárásokkal, vagy hasonló, szakember számára ismert vizsgálati eljárásokkal meghatá-
20 rozni.

Az Y helyettesítő egy specifikus jelentése a fluoratom jelentés.

Az Y helyettesítő egy specifikus jelentése a klóratom jelentés.

Az Y helyettesítő egy specifikus jelentése a brómatom jelentés.

Az Y helyettesítő egy specifikus jelentése a metoxicsoprt jelentés (-OMe).

25 Az (I) általános képletű vegyületek egy specifikus körét képezik azok a vegyületek, amelyekben a metilcsoportot hordozó szénatom (S) konfigurációjú.

Az (I) általános képletű vegyületek egy előnyös körét képezik azok a vegyületek, amelyekben a metilcsoportot hordozó szénatom (R) konfigurációjú.

30 Előnyös találmány szerinti vegyületek a 2-[4-(7-klórkinolin-2-iloxi)fenoxi]propánsav [(21b) képletű vegyület]; 2-[4-(7-brómkinolin-2-iloxi)fenoxi]propánsav [(21c) képletű vegyület]; 2-[4-(7-fluorkinolin-2-iloxi)fenoxi]propánsav [(21a) képletű vegyület], valamint ezek gyógyászati szempontból elfogadható sói [például a (22a), (22b)]

és (22c) képletű vegyületek]. Még előnyösebb találmány szerinti vegyületek az (R)-2-[4-(7-klórkinolin-2-iloxi)fenoxi]propánsav (21b vegyület), valamint gyógyászati szempontból elfogadható sói (például a 22b vegyület) és az (R)-2-[4-(7-brómkinolin-2-iloxi)fenoxi]propánsav (21c vegyület), valamint gyógyászati szempontból elfogadható
5 sói (például a 22c vegyület).

Azokban az esetekben, amikor a vegyületek elegendően bázikusak vagy savasak ahhoz, hogy nem-toxikus savval vagy bázissal stabil sókat képezzenek, az ilyen vegyületek sók formájában való adagolása megfelelő lehet. A gyógyászati szempontból megfelelő sók példái közé tartoznak fiziológiás szempontból elfogad-
10 ható aniont képező savakkal képzett szerves-sav addíciós sók, például tozilátok, metánszulfonátok, acetátok, citrátok, malonátok, tartarátok, szukcinátok, benzoátok, aszkorbátok, α -ketoglutarátok és α -glicerofoszfátok. Megfelelő szervetlen sók is képezhetők, például a hidrogén-klorid-, szulfát-, nitrát-, hidrogén-karbonát- és karbonát-sók.

A gyógyászati szempontból elfogadható sók szakember számára ismert standard eljárásokkal nyerhetők, például egy megfelelően bázikus vegyület, például egy amin megfelelő fiziológiás szempontból elfogadható aniont nyújtó savval való rea-
15 gáltatásával. Ugyancsak előállíthatók karbonsavakból alkálifém- (például nátrium-, kálium- vagy lítium-) vagy alkáliföldfém- (például kalcium-) sók.

Az (I) általános képletű vegyületek gyógyászati készítményekké formálhatók, és az emlős gazdaszervezetnek, például embernek a kiválasztott adagolási útnak megfelelően adaptált formák különféle változataiban adagolhatók, például orálisan vagy parenterálisan, intravénásan, intramuszkulárisan, helyileg vagy szubkután úton.

Így a találmány szerinti vegyületek adagolhatók szisztémásan, például oráli-
25 san gyógyászati szempontból elfogadható hordozóanyaggal, például inert hígító-
anyaggal vagy asszimilálódó ehető hordozóanyaggal kombinálva. Lehetnek a találmány szerinti vegyületek kemény- vagy lágyhéjú zselatinkapszulákba zártak is, tabletákká préselt formájúak, vagy bevihetők közvetlenül a beteg diétájának részét képező ételmiszerrel. Orális terápiás adagolásra az aktív vegyületeket egy vagy több
30 segédanyaggal kombinálhatjuk, és alkalmazhatjuk lenyelendő vagy szájüregi alkalmazásra szolgáló tableták, labdacskok, kapszulák, elixírek, szuszpenziók, szirupok, ostyás készítmények és hasonló formájában. Az ilyen kompozícióknak és készit-

ményeknek legalább 0,1 % hatóanyagot kell tartalmazniuk. A hatóanyag százalékos mennyisége a kompozíciókban és készítményekben természetesen változhat, célszerűen mintegy 2 és mintegy 60 tömeg% közötti egy adott egységdózis formában. A hatóanyag mennyisége az ilyen terápiásan hasznos készítményekben olyan, hogy

5 a hatásos dózisszintet érjük el adagolásukkal.

A tabletták, labdacso, pilulák, kapszulák és hasonló készítmények tartalmazhatják a következőket is: kötőanyagokat, mint a tragakantgyanta, akácmézga, kukoricakeményítő vagy zselatin; töltőanyagokat, mint a dikalcium-foszfát; szétesést elősegítő szert, mint a kukoricakeményítő, burgonyakeményítő, algin-sav és hasonló; csúszást elősegítő szert, mint a magnézium-sztearát; valamint édesítőszereket, mint a szacharóz, fruktóz, laktóz vagy aszpartám vagy ízesítőszereket, mint a borsmenta, gaulteria olaj vagy cseresznyearoma. Ha az egységdózis forma kapszula, ez a fenti típusú anyagokon kívül folyékony hordozóanyagot, például növényi olajat vagy polietilénlikolt is tartalmazhat. Különböféle egyéb anyagok is jelen lehetnek bevonó anyagokként vagy a szilárd egységdózis forma fizikai formájának egyéb módosítására szolgáló módon. Például, a tabletták, pilulák vagy kapszulák lehetnek zselatinnal, viasszal, sellakkal vagy cukorral és hasonlókkal bevont formájúak. A szirupok vagy elixírek tartalmazhatnak a hatóanyag mellett szacharózt vagy fruktózt édesítőszerként, metil- és propilparabéneket tartósítószerként, színezéket és ízesítőanyagot, például cseresznye- vagy narancs-aromát. Természetesen minden, az egységdózis formák előállításánál alkalmazott anyagnak gyógyászati szempontból elfogadhatónak és az alkalmazott mennyiségben lényegében nem-toxikusnak kell lennie. Továbbá, a hatóanyag beépíthető nyújtottan szabaddá váló készítményekbe és eszközökbe is.

A hatóanyagot adagolhatjuk intravénásan vagy intraperitoneálisan infúzió vagy injekció formájában. A hatóanyagok vagy sóik oldatai elkészíthetők vízben, amely adott esetben nem-toxikus felületaktív-szerrel elegyített. Diszperziók is készíthetők glicerinnel, folyékony polietilénlikolokban, triacetinnel és ezek elegyeiben, valamint olajokban. A tárolás és alkalmazás szokásos körülményei mellett ezek a készítmények tartósítószer-tartalmaznak a mikroorganizmusok szaporodásának megakadályozására.

Az injekciós vagy infúziós célra alkalmas gyógyászati dózisformák közé tarthatnak steril vizes oldatok vagy diszperziók vagy steril porok, amelyek adaptáltak

ahhoz, hogy a felhasználással egyidejűleg steril injektálható vagy infúziós úton beadható oldatokat vagy diszperziókat készítsenek belőlük, adott esetben a készítmények liposzómákba kapszulázottak. A végső dózisformának minden esetben sterilnek, folyékonynak és a gyártás és tárolás körülményei mellett stabilnak kell lennie. A

5 folyékony hordozóanyag vagy vivőanyag lehet oldószer vagy folyékony diszperziós közeg, amely például vizet, etanolt, valamely poliólt (például glicerint, propilén-glikolt, folyékony polietilén-glikolokat és hasonlókat), növényi olajokat, nem-toxikus gliceril-észtereket és ezek megfelelő elegyeit tartalmazza. A megfelelő fluiditás fenntartható például liposzómák formálásával, diszperziók esetén a szükséges részecskeméret

10 fenntartásával vagy felületaktív szerek alkalmazásával. A mikroorganizmusok hatásának megakadályozása különféle antibakteriális és antifungális szerekkel valósítható meg, például parabének, klórbutanol, fenol, szorbinsav, tiomerizál és hasonlókat alkalmazásával. Számos esetben előnyös, ha a készítmények izotóniássá tevő szereket tartalmaznak, például cukrokat, puffereket vagy nátrium-kloridot. Az injektál-

15 ható készítmények elnyújtott felszívódása megvalósítható olyan készítmények alkalmazásával, amelyek a felszívódást késleltető szereket tartalmaznak, ilyenek például az alumínium-monosztearát és a zselatin.

Steril injektálható oldatok készíthetők oly módon, hogy a hatóanyag szükséges mennyiségét a megfelelő oldószerbe visszük, amely oldószer különféle egyéb,

20 az előzőekben felsorolt összetevőket is tartalmazhat szükség szerint, majd a készítményt szűréssel sterilezzük. Steril injektálható oldatok készítésére szolgáló steril porok esetén előnyös előállítási módszer a vákuum-száritás és a fagyasztva-száritás, amely eljárások eredményeként a hatóanyag és bármely más, az előzetesen sterilre szűrt oldatokban jelenlévő összetevő por formáját nyerjük.

25 A találmány szerinti vegyületek tiszta formájukban alkalmazhatók helyi alkalmazásra, amennyiben folyékonyak. Általában kívánatos azonban, hogy a bőrre készítmények vagy kompozíciók formájában vigyük fel ezeket a vegyületeket dermatológiaiailag elfogadható hordozóanyagokkal kombinálva, amely hordozóanyagok lehetnek folyékonyak vagy szilárdak.

30 A megfelelő szilárd hordozóanyagok közé tartoznak finomeloszlású szilárd anyagok, például talkum, agyag, mikrokristályos cellulóz, szilícium-dioxid, alumínium-dioxid és hasonlókat. A megfelelő folyékony hordozóanyagok közé tartoznak a víz, di-

metil-szulfoxid (DMSO), alkoholok vagy glikolok vagy víz-alkohol/glikol elegyek, amelyekben a találmány szerinti vegyületek hatásos mennyisége – adott esetben nem-toxikus felületaktív szerek segítségével – oldható vagy diszpergálható. Egy adott alkalmazáshoz szükséges jellemzők optimalizálása érdekében segédanyagok, például illatosító anyagok és további mikrobaellenes szerek adagolhatók. A kapott folyékony kompozíciókat alkalmazhatjuk abszorbens párnákból, alkalmazhatjuk kötések és más kötő anyagok impregnálására, vagy permetezhetjük az érintett területre pumpa típusú vagy aeroszolos permetező alkalmazásával.

Folyékony hordozóanyagokkal, a felhasználó bőrére való közvetlen felvitel céljára szolgáló kenhető pépek, gélek, kenőcsök, szappanok és hasonló előállítására alkalmazhatunk sűrítőszereket, például szintetikus polimereket, zsírsavakat, zsírsav-sókat és -észtereket, zsíralkoholokat, módosított cellulózokat és módosított ásványi anyagokat is.

A szakirodalomból ismertek olyan hasznos dermatológiai kompozíciók példái, amelyek alkalmasak az (I) általános képletű vegyületek bőrbe való bevitelére, ilyen kompozíciókat ismertetnek például Jacquet és munkatársai (US P 4 608 392), Geria (US P 4 992 478), Smith és munkatársai (US P 4 559 157) és Wortzman (US P 4 820 508).

Az (I) általános képletű vegyületek hasznos dózisa meghatározhatók in vitro aktivitásuk és in vivo állatmodellekben kapott aktivitásuk összehasonlításával. Szakember számára ismertek azok az eljárások, amelyekkel az egereken és más állatokon kapott hatásos dózis emberre extrapolálható (lásd például az US 4 938 949 számú szabadalmi leírásban).

Egy adott vegyület vagy aktív sója vagy származéka kezeléshez szükséges mennyisége nem csak az adott esetben megválasztott sótól függően változó, hanem befolyásolja az alkalmazott mennyiséget az adagolás útja, a kezelendő állapot természete, a beteg kora és állapota, végső soron a kezelőorvos vagy klinikus döntésének körébe tartozik.

A vegyületeket célszerűen egységdózis formában adagoljuk, például 5 – 1000 mg/m², célszerűen 10 – 750 mg/m², legcélszerűbben 50 – 500 mg/m² hatóanyag/egységdózis mennyiséget tartalmazó formában.

A kívánt dózist célszerűen beadhatjuk egyetlen dózisként vagy megfelelő időközönként beadott osztott dózisokként, például napi két, három, négy vagy több aldózisként. Az aldózisok maguk is tovább oszthatók, például néhány különálló, szabadon elosztott adagolásra.

5 A találmány szerinti vegyületek hatásos tumorelles szerek, az XK 469-hez viszonyítva nagyobb hatással és/vagy csökkent toxicitással bírnak. Előnyösen a találmány szerinti vegyületek hatásosabbak és kevésbé toxikusak, mint az (R) XK 469 és/vagy elkerülik az XK 469 által érintett katabolikus metabolizmus potenciális helyeit, azaz más metabolikus profillal bírnak, mint az XK 469.

10 A találmány terápiás eljárást nyújt rák kezelésére emlősökben, amely abban áll, hogy a rákos emlősnek a találmány szerinti vegyület vagy készítmény hatásos mennyiségét adjuk be. Az érintett emlősök körébe tartoznak főemlősök, ember, rágcsálók, kutyafélék, macskafélék, szarvasmarhafélék, birkafélék, lófélék, sertésfélék, kecskefélék és hasonló. Rákon a malignáns neoplazmák (daganatok) bármiféle
15 különböző típusait értjük, például a bélrákot, emlőrákot, melanómát és leukémiát, főként olyanokat, amelyekre általában nem-kívánt sejtproliferáció jellemző, például szabályozatlan szaporodás, a differenciálódás hiánya, helyi szövetinvaszió és áttét.

A találmány szerinti vegyületek rák kezelésére való alkalmazásának meghatározására a szakterületen jól ismert vizsgálatokat alkalmazhatunk. Például, dokumentáljuk a kezelési protokollok terveit, a toxicitás értékelését, az adatelemzést, a tumorsejt-pusztulás mennyiségi értékeit és transzplantálható tumorok szkrínélése alkalmazásának biológiai szignifikanciáját. Továbbá, a vegyületek rák kezelésére való alkalmazhatóságát meghatározhatjuk az alábbiakban ismertetésre kerülő tesztek alkalmazásával is.

25 Az alábbiakban ismertetésre kerülő A-H tesztekben a következő általános módszereket alkalmaztuk:

Tumor és állat fenntartás

A vizsgálatokban pankreászvezeték adenokarcinóma 03-t, B16-melanómát, emlő adenokarcinóma 16/C/Adr-t, emlő adenokarcinóma 17/Adr-t, bél adenokarcinóma 26-t és emlő adenokarcinóma 16/C-t alkalmaztunk.

A tumorokat Panc03, B16 tumor esetén C57B1/6 eredetű, Colon (bél) 26 esetén Balb/c eredetű és emlő tumorok esetén C3H eredetű egértörzsekben tartjuk

fenn. A tumorokat a megfelelő F₁ hibridbe (BDF1 = C57B1/6 nőstény X DBA/2 hím) vagy a kemoterápiás vizsgálatokból származó törzsbe transzplantáljuk. A vizsgálatokba bevont egyes egerek testtömegei közötti különbség 5 g-on belüli, és a kezelés kezdetén minden egér 17 g fölötti testtömegű. Az egereket táplálékkal és vízzel ad libitum látjuk el.

Szilárd tumorok kemoterápiája

Az állatokat összegyűjtjük, a nulladik napon 12-es méretű trokár alkalmazásával szubkután 30 – 60 mg-os tumor fragmentumokat ültetünk beléjük, ismét válogatás nélkül összegyűjtjük őket, és felosztjuk a különféle kezelésekre szolgáló és kontroll csoportokra. A korai állapot kezelésére a kemoterápiát a tumor beültetését követő 1 – 3. napon kezdjük meg, amikor a sejtek száma még viszonylag kicsi (10⁷ - 10⁸ sejt). Az előrehaladott állapotú vizsgálatokhoz a tumorokat hagyjuk 5 vagy ennél több napon át növekedni, és ezt követően kezdjük meg a kezelést. A tumorokat hetente kétszer kaliberkörzővel mérjük. Az egereket akkor öljük le, amikor tumorjuk eléri az 1500 mg tömeget. A tumortömegeket kétdimenziós mérésekből becsüljük a következők szerint:

$$\text{tumortömeg (mg-ban)} = (a \times b^2)/2,$$

ahol a és b a tumor hossza, illetve szélessége mm-ben megadva.

Szilárd tumorok elleni aktivitás értékelésének végpontjai

A tumorelles aktivitás meghatározásához a következő kvantitatív végpontokat alkalmazzuk:

a) A tumornövekedés késleltetése (T-C érték), ahol T jelentése a tumor egy előre meghatározott értékének (például 1000 mg tömegnek) eléréséhez szükséges átlagos idő (napokban) a kezelt csoportban és C jelentése az azonos tumorméret eléréséhez szükséges átlagos idő (napokban) a kontroll csoportban. A tumormentes túlélőket kizárjuk a számításokból (a gyógyultakat külön értékeljük). Ez az érték a tumorelles hatékonyság egy fontos jellemzője, mivel lehetővé teszi a tumorsejtek pusztításának számszerűsítését.

b) Tumorsejtek pusztításának számítása szubkután (SC) szaporodó tumoroknál, a log₁₀ sejtpusztulást az alábbi képletből számítjuk:

$$\log_{10} \text{össz - sejtpusztulás (tömeg)} = \frac{T - C \text{ érték napokban}}{(3,32)(Td)},$$

ahol $T - C$ jelentése a tumornövekedés késleltetése a fentiekben leírtak szerint, T_d jelentése a tumortérfogat megkettőződésének ideje (napokban), amelyet a tumoros kontroll csoport exponenciális növekedési időre vonatkozó log-lineáris szaporodási grafikonjához (100 – 800 mg tartományban) legjobban illesztett egyenes vonalból

5 becsülünk. A $T - C$ értékek $\log_{10}$ sejtpusztulás értékévé való konverziója azért lehetséges, mivel a kezelést követően újraképződő tumorok T_d értéke (Rx) megközelíti a kezeletlen kontroll egerek tumorainak T_d értékeit.

A tumornövekedés késleltetésének ($T - C$ érték) log tumorsejt-pusztulás értékévé való konverziójának kérdését ebben a sorozatban az teszi jogossá, hogy az 5

10 vizsgált szer esetén nagyszámú gyógyulás következett be. A gyógyulás a tumorsejt-pusztulás egyértelmű jelzése (jobb jelzés, mint a tumorsejt-replikáció nyugalmi állapota).

A kiválasztott eseteknél, mind a történeti in vivo értékelési adatok esetén, mind az itt közölt adatok esetén igen értékes, ha összehasonlítjuk a jelentősen különböző vizsgálati tervek szerinti kísérletekben kapott log pusztulás számokat. Az

15 összehasonlíthatóság érdekében egy aktivitás-táblázatot hoztunk létre, és itt közöljük. Megjegyezzük, hogy az +++ és ++++ közötti aktivitási mérték szükséges ahhoz, hogy az egerekbe beültetett 100 – 300 mg tömegű szilárd tumorok többségében részleges regressziót (partial regression, PR) vagy teljes regressziót (complete

20 regression, CR) hozzon létre. Így a + vagy ++ értékű aktivitást nem tekintjük hatásosnak a szokásos klinikai kritériumok szerint. A részleges regresszió (PR) a tumor tömegének a kezelést megelőző tömeghez viszonyított 50 % alatti tömegre való csökkentését jelenti. A teljes regresszió (CR) a tumor tömegének tapintható alatti méretre való csökkenését jelenti (azaz zéró kimutatható tömeg alá való csökkenté-

25 sét).

A log₁₀ tumorsejt-pusztulás átalakítása aktivitás-mértékre

Tumorellenes aktivitás		Rx időtartam 5 – 20 nap log ₁₀ pusztulás (teljes)
Igen aktív	++++	> 2,8
	+++	2,0 – 2,8
	++	1,3 – 1,9
	+	0,7 – 1,2
	–	< 0,7

A kezelt és a kontroll csoportokat akkor mérjük, amikor a kontroll csoportban a tumor a mintegy 700 – 1200 mg méretet (a csoport átlaga) eléri. A T/C érték százalékban kifejezve a tumorellenes hatékonyság jelzőszáma. A T/C = 0 % érték azt jelenti, hogy nincs tumornövekedés. A T/C = 100 % érték azt jelenti, hogy nincs tumorellenes aktivitás, azaz a kezelt és a kontroll tumorok egyformán növekednek. A T/C = 42 % vagy ennél kisebb értéket a Drug Evaluation Branch of the Division of Cancer Treatment (NCI) jelentős tumorellenes aktivitásnak tekinti. A T/C < 10 % értéket igen szignifikáns tumorellenes aktivitásnak tekinti az NCI, és ez az a szint, amelyet az NCI klinikai vizsgálat végzésére jogosítónak tart, amennyiben a toxicitás, a formálás és néhány más követelmény tekintetében is megfelelő a vizsgálandó anyag (ennek elnevezése DN-2 szintű aktivitás). A testtömeg-vesztés 20 %-osnál nagyobb mélypontját (a csoport átlagát tekintve) vagy a gyógyszer hatására bekövetkező 20 %-ot meghaladó pusztulást a legtöbb egyutas vizsgálatnál túlságosan toxikus dózissnak tekintik.

Gyógyszerkészítés egereknek történő beinjektálásra

Az A-H tesztekben a 22b vegyületet (nátriumsó) 1 %-os nátrium-hidrogén-karbonát-oldatban, dH₂O-ban vagy foszfáttal pufferolt sóoldatban (PBS) alkalmazzuk pH-ját HCl adagolásával 7,0 és 7,5 közé állítva, és a vegyületet intravénásan (IV) vagy orálisan (PO) adagoljuk, injektáláskor 0,2 ml injekciós térfogatot alkalmazunk.

A TESZT

Korai állapotú pankreászvezeték adenokarcinóma 03 elleni hatás értékelése

A pankreászvezeték adenokarcinóma 03 tumor taxol iránt igen érzékeny (++++ aktivitás mértékű). Érzékeny adriamicinre (+++ aktivitás mértékű), mérsékelten

érzékeny VP-16, citoxan és CisDDPt iránt (++) aktivitás mértékű) és kevésbé érzékeny 5-FU iránt (+ aktivitás mértékű). Nőstény BDF1 egerekbe (származási helyük NCI-Raleigh) [születésük dátuma (a továbbiakban Sz. D.) 2000. március 27.; érkezésük dátuma (a továbbiakban É. D.) 2000. április 9.] pankreászvezeték adenokarcinóma 03 tumort ültettünk be [a tumor-beültetés dátuma (a továbbiakban T. B. D.) 2000. március 17.], és az állatokat kezelt és kontroll csoportokra osztottuk. A kezelt csoportoknak a 3 – 9. napok mindegyikén intravénásan 22b vegyületet adtunk be. Az A teszt eredményeit az 1. táblázatban mutatjuk be.

B TESZT

10 Korai állapotú B16 melanóma elleni hatás értékelése

A B16 melanóma szubkután (SC) beültetve gyógyszerre igen kevésbé érzékeny tumor. VP-16-ra, vinblasztinre és Ara-C-re nem reagál [negatív (-) aktivitás mértékű], marginálisan reagál taxolra, adriamicinre és kamptotecinre (+ vagy +/- aktivitás mértékű), mérsékelten reagál 5-FU-ra, citoxánra és CisDDPt-re (++) aktivitás mértékű). Csak a BCNU és egyéb nitrozokarbamidok nagy hatásúak (++++ aktivitás mértékűek).

A vizsgálatba 21,6 g átlagos testtömegű BDF1 nőstény egereket vontunk be (származási helyük NCI-CRL-Ral, Sz. D. 2000. január 24., É. D. 2000. február 29.). Az egerekbe 138 passzálási számú B16 melanóma sejteket ültettünk be (T. B. D. 2000. április 17.) A Td érték (tumortérfogat kettőződési idő) 1 nap. Az egereket kontroll csoportra és 3 vizsgálati csoportra osztottuk. A kontroll csoport (#1. ketrec) nem kapott kezelést.

Az #1. ketrecben lévő állatok tumora 7 nap alatt érte el az 1000 mg tömeget (Td = 1,0 nap), és a tumornövekedés a vártak megfelelő volt.

A #2. ketrecben lévő állatoknak a 22b vegyületet (racém) adagoltuk intravénásan 40 mg/kg/injekció mennyiségben naponta egyszer az 1 – 4. napokon. Összesen 320 mg/kg mennyiséget adagolunk. Ez a dózis toxikus, 1/5 gyógyszer-pusztulást vált ki (amely a 7. napon következik be). A pusztulás oka csontvelő-toxicitás, ami a kis lép-méretben nyilvánul meg. A gasztrointesztinális traktus vizsgálata azt mutatta, hogy az üres, ami azt jelzi, hogy az elpusztulást megelőzően nem történt táplálékfelvétel. Ez a dózis súlyos fogyást eredményezett (-20,8 %, a mélypont a 7. napon jelentkezik, a teljes helyreállítás a 11. napon következik be). A -20 %-os tömegvesztést

az N. C. I. standardok szerint túlságosan toxikusnak tekintjük. Itt a 22b vegyület (racém) adagolása az egerekben az idegvezetés lassulásával társult. Az 50 mg/kg-os dózisoknál a toxicitás enyhe, de az 1. napon 20 percig, a 4. napon 8 percig tart. Magasabb dózisoknál, például 80 mg/kg-nál a szer jelentős injektálást követő neuromuszkuláris toxicitást okoz, amely 20 percnél tovább tart, de 2 óra alatt kioldódik. Ez magában foglalja a hátsó lábak jellegzetes paralízisét, ami azt jelzi, hogy a toxicitás a vezetési sebességgel kapcsolatos, mivel minél hosszabbak az idegek, annál több funkció érintett. Amint azt a későbbiekben tárgyalni fogjuk, az idegvezetésnek ez a lassulása a sorozat racém és S-enantiomer formáinál jelentkezik. Az R-enantiomer formáknál ez a hatás soha nem következik be.

A #3. ketrecben lévő állatoknak a 22b vegyületet intravénásan 50 mg/kg/injekció mennyiségben az 1 – 5. napokon. Összesen 250 mg/kg dózist adunk be. Ennél a dózisonál a testtömeg-vesztés -13 % (mélypontja a 7. napon jelentkezik, a teljes helyreállítás a 11. napra valósul meg, a gazdaszervezet helyreállításának ideje 4 nap). Ez a dózis hatásos (T/C = 0, log pusztulás = 2,6, +++ aktivitás mérték).

A #4. ketrecben lévő állatoknak a 22b vegyületet intravénásan 30 mg/kg/injekció mennyiségben naponta az 1 – 6. napokon, az összes adagolás 180 mg/kg. Ez a dózis -7,4 % tömegvesztést eredményez (a mélypont az 5. napon jelentkezik, a teljes helyreállítás a 9. napra következik be). Ez a dózis hatásos (T/C = 15,6 %, log pusztulás = 1,8, ++ aktivitás mérték).

A B teszt eredményeit a 2. táblázatban összegezzük.

C TESZT

Korai állapotú emlő adenokarcinóma 16/C/Adr elleni hatás értékelése

A korai állapotú emlő adenokarcinóma 16/C/Adr egy p-glikoprotein negatív multidrog rezisztens tumor. A vizsgálatba 26,3 g átlagos testtömegű C3H nőstény egereket vontunk be, amelyek származási helye az NCI-Kingston-CRL (Sz. D. 2000. április 3.; É. D. 2000. május 16.). Az egerekbe 183 passzálon átment korai állapotú emlő adenokarcinóma 16/C/Adr-t ültettünk be, és az egereket kontroll csoportra (#1. ketrec) és két kísérleti csoportra (#2. ketrec és #3. ketrec) osztottuk (T. B. D. 2000. július 22.). A kontroll állatok (#1. ketrec) nem kaptak semmiféle kezelést. A ki-

sérleti csoportoknak a 22b vegyület racém formáját (klór analóg) adagoltuk az alábbi rend szerint:

Csoport	Kezelési rend
#2. ketrec	42 mg/kg 22b vegyület, naponta kétszer az 1 – 3. napokon és a 11 – 13. napokon 4 órás megszakítással
#3. ketrec	27 mg/kg 22b vegyület, naponta kétszer az 1 – 3. napokon és a 11 – 13. napokon 4 órás megszakítással

Az #1. ketrecben lévő állatok tumora 16 nap alatt érte el az 1000 mg tömeget ($T_d = 1,2$ nap), a tumornövekedés a vártak megfelelő volt.

5 A #2. ketrecben lévő állatoknak adagolt 22b vegyület összesen 504 mg/kg, az adagolás intravénásan történt. Ennél a kezelési rendnél mérsékelt neuromuszkuláris járásmód zavar jelentkezik, amely az injekció beadása után mintegy 10 percig tart. A toxicitás az első két napon a legnyilvánvalóbb, a következő injekciók beadásakor kevésbé nyilvánvaló. Ez a dózis -15 % testtömeg-vesztést eredményez (a mélypont a 10 7. napon jelentkezik, a teljes felépülés a 12. napra következik be). Érdekes módon az egerek a kezelés második szakaszában (11 – 13. nap) súlygyarapodást mutatnak. A szer ebben a dózisban hatásos ($T/C = 0$ %, log pusztulás = 2,0, +++ aktivitás mérték).

15 A #3. ketrecben lévő állatok összesen 324 mg/kg 22b vegyületet kapnak. Ez a dózis nem-szignifikáns járászavart vált ki, a #3. ketrec állatainál a testtömeg csökkenés -1,1 % (mélypontja a 7. napon jelentkezik, a teljes felépülés a 8. napra következik be). A szer ebben a dózis-rendben inaktív ($T/C = 53$ %, log pusztulás = 0,6). A C teszt eredményeit a 3. táblázatban összegezzük.

D TESZT

20 **A racém 22c vegyület hatásának értékelése korai állapotú emlő adenokarcinóma 17/Adr ellen**

A 22c vegyület (bróm analóg) racém elegyét értékeljük egy multidrog-rezisztens emlőtumor (Mam-17/Adr) ellen.

25 29,3 g Átlagos testtömegű nőstény C3H/HeN (MTV-neg) egereket vontunk a vizsgálatba, származási helyük: N. C. I. Frederick (Sz. D. 2000. október 9.; É. D. 2000. november 14.). Az egerekbe 220-szor passzált Mam-17/Adr-t ültettünk be (ez

egy p-glikoprotein pozitív multidrog-rezisztens tumor) (T. B. D. 2001. január 2., Td = 1,0 nap). A 22c vegyületet (racém) az adagoláshoz 5 %-os etanolban szuszpendáljuk, 1 % POE-80-t és 1 % nátrium-hidrogén-karbonátot adagolunk a szuszpenzió oldására. Ezután foszfáttal pufferolt sóoldatot adunk az oldathoz, és pH-ját HCl adagolásával 7-re állítjuk be. Injekciónként 0,2 ml mennyiséget adunk be intravénásan.

Az #1. ketrecben lévő állatok semmiféle kezelést nem kaptak. A tumornövekedés a vártak megfelelő, az 1000 mg tömeget a 7. napon éri el (a 7 – 9. nap tartományában (Td = 1,0 nap).

A #3. ketrecben lévő állatoknak a 22c racém vegyületet adtuk intravénásan 50 mg/kg/injekció mennyiségben az 1. napon, 62,5 mg/kg mennyiségben a 2. napon és 60 mg/kg/injekció mennyiségben a 3., 6., 7. és 8. napon, összesen 352,5 mg/kg mennyiséget adtunk be. Ez a dózis mérsékelt, -5,5 %-os testtömeg-vesztést eredményezett. Ez a szer az idegvezetést mérsékeltten lassította, a 60 – 62,5 mg/kg dózisonál mintegy 10 percig tartó hatást váltott ki. A tünetek enyhe járászavarban jelentkeztek. Ez a dózis hatásos tumorelles aktivitású (T/C = 0, log pusztulás = 4,2, ++++ aktivitás mérték). A tumorok az 1000 mg tömeget a 21. napon érték el (a 19 – 42. nap tartományában). Az ezen tumor elleni fenti aktivitást egyetlenegy tumorelles szer standard vagy kutatás sem haladta meg.

A #4. ketrecben lévő állatoknak a 22c racém vegyület készítményt adtuk be intravénásan 30 mg/kg mennyiségben az 1. napon, 37,5 mg/kg mennyiségben a 2. napon és 36 mg/kg/injekció mennyiségben a 3., 6., 7. és 8. napokon, összesen 211,5 mg/kg mennyiségben. Ennél a dózisonál nem észleltünk járászavart. Ez a dózis ugyancsak erősen hatásos (log pusztulás = 3,0). A tumorok az 1000 mg tömeget a 17. napon (a 14 – 21. nap tartományában) érték el.

A 22c racém vegyület készítményt a 22b racém vegyület készítménynél észlelthez hasonló típusú neuromuszkuláris toxicitást eredményezőnek találtuk, de a hatás kevésbé volt súlyos (lásd a B tesztet).

Eredményeinket a 4. táblázatban mutatjuk be.

E TESZT

A 22a vegyület és a 22b vegyület R-enantiomerjének korai állapotú emlő adenokarcinóma 17/Adr elleni hatásának értékelése

A 22a (fluor analóg) és 22b vegyület R-enantiomerjének aktivitását értékeltük Mam-17/Adr emlőtumorról szemben, amely egy p-glikoprotein pozitív multidrog-rezisztens tumor. A vizsgálatba 25,9 g átlagos testtömegű C3H/HeN (MTV-negatív) nőstény egereket vontunk be, amelyek származási helye: N. C. I.-Frederick (Sz. D. 2000. november 20., É. D. 2001. január 2.). Az egerekbe 223-szor passzált Mam-17/Adr-t ültettünk be (T. B. D. 2001. február 12., Td = 1,2 nap), és az állatokat kontroll és kezelt csoportokra osztottuk.

A 22a racém vegyületet 3 % etanolban szuszpendáltuk, és 1 % POE-80-t, és 0,25 % nátrium-hidrogén-karbonátot adtunk a szuszpenzióhoz az oldódás létrehozására. Ezután az oldathoz foszfáttal pufferolt sóoldatot adtunk, és pH-ját HCl adagolásával 7-re állítottuk be. Az állatoknak intravénásan 0,2 ml térfogatú injekciót adtunk be. A 22b R-enantiomer vegyületet 3 % etanolban szuszpendáltuk, és 1 % POE-80-t, és 0,5 % nátrium-hidrogén-karbonátot adtunk a szuszpenzió oldására. Ezután az oldathoz foszfáttal pufferolt sóoldatot adtunk, és pH-ját HCl adagolásával 7-re állítottuk be, 0,2 ml térfogatú injekciókat adtunk be az állatoknak intravénásan.

Az #1. ketrecben lévő kontroll csoport semmiféle kezelést nem kapott, a tumor az 1000 mg-os tömeget a 9,0 nap (8,5 – 10 nap, Td = 1,2 nap) alatt érte el. A tumornövekedés a vártnak megfelelő volt.

A #3. ketrecben lévő állatok 36 mg/kg racém 22a vegyületet kaptak intravénásan az 1. napon és 48 mg/kg/injekció mennyiséget a 2 – 7. napokon, összesen 324 mg/kg-ot. Nagyobb egyedi dózisokat nem adhattunk a súlyos neuromuszkuláris toxicitás miatt (az idegvezetés lelassulása eredményeként mind a mellső, mind a hátsó lábak diszfunkcionális mozgása következett be). A diszfunkció 15 percig tartott a mellső lábaknál, ennél hosszabb ideig a hátsó lábaknál. Ez a dózis aktívnek bizonyult (T/C = 14 %, log pusztulás = 1,5, ++ aktivitás mérték). Bár a fenti vegyület a fenti adagolásmód mellett aktív, ez egyáltalán nem bizonyul javulásnak a 22b vagy 22c vegyületekhez képest.

A #4. és #5. ketrecben lévő állatoknak a 22a racém vegyület alacsonyabb dózisait adtuk be, mint a #3. ketrecben lévő állatoknak, a vegyület ilyen adagolás mellett inaktívnak bizonyult.

A #6. ketrecben lévő állatoknak a 22b vegyület R-enantiomerjét adagoltuk, nem jelentkezett neuromuszkuláris toxicitás. A B tesztben a 22b vegyület racém formája az idegvezetés lelassulását váltotta ki. Ez az eredmény azt foglalja magában, hogy a 22b vegyület neuromuszkuláris toxicitásaért az S-enantiomer felelős. Az S-enantiomer formát később szintetizáltuk és 80 mg/kg/injekció, valamint 50 mg/kg/injekció dózisban is intravénásan beadtuk, mindkét dózis jelentős neuromuszkuláris toxicitást eredményezett. A #6. ketrecben lévő állatoknak a 22b vegyület R-enantiomer formáját adtuk be intravénásan 83 mg/kg/injekció mennyiségben az 1 – 4. napokon, összesen 332 mg/kg dózisban. Ez a dózis toxikusnak bizonyult, mind az 5 egér elpusztult (a 7., 7., 8., 9. és 10. napokon). A pusztulás oka GI-(gasztrointesztinális) epiteliális károsodás, ami hasmenést eredményező GI-epiteliális pusztulást vált ki. Az egerek közül 3-nak enyhén megnagyobbodott, táplálékkal töltött volt a gyomra, ami gyomorparézisre (gyomor petyhüdség) vagy paralitikus ileuszra utal. A lép mérete mindegyik egérnél közel normális, ami azt jelzi, hogy a szer nem váltott ki az egerekben nagy csontvelő-toxicitást.

A #7. ketrecben lévő állatoknak a 22b vegyület R-enantiomerjét adagoltuk intravénásan 55 mg/kg/injekció mennyiségben az 1 – 4. napokon, összesen 220 mg/kg mennyiségben. Ez a dózis némileg toxikusnak bizonyult, 1/5 állat-pusztulást eredményezett, és nagy testtömeg-vesztéssel járt (-23,4 %, a mélypont a 9. napon jelentkezett, a teljes felépülés a 14. napra következett be). Az egy állat pusztulásának oka GI-epiteliális károsodás (hasmenés) csontvelő-toxicitással komplikáltan (kis lép). Ez a dózis azonban igen aktívnak bizonyult (T/C = 0, log pusztulás = 3,3, ++++ aktivitás mérték). A tumorok az 1000 mg tömeget a 22. napon (18 – 23. nap) érték el.

A #8. ketrecben csak egy egér volt, amelyet a neuromuszkuláris toxicitás értékelésének kezdeti toxicitási kontrolljaként használtunk. Ebbe az állatba a 22b vegyület R-enantiomerjének egyetlen bólusz készítményét injektáltuk 124,5 mg/kg mennyiségben csak az 1. napon. Nem észleltünk neuromuszkuláris toxicitást. A dózis mérsékelten aktív és nem toxikus (T/C = 35 %, log pusztulás = 0,8, + aktivitás mérték).

Így az adatok azt mutatják, hogy a 22a vegyület hatásos (#2. ketrec). A 22b vegyület R-enantiomerje a szer racém formájánál előforduló neuromuszkuláris toxicitástól mentes. Az S-enantiomert előállítottuk és vizsgáltuk, ezt találtuk felelősnek a neuromuszkuláris toxicitásért.

5 Eredményeinket az 5. táblázatban mutatjuk be.

F TESZT

A 22b vegyület R-enantiomerjének és a 22c vegyület R-enantiomerjének korai állapotú emlő adenokarcinóma 16/C elleni hatásának értékelése

10 Ebben a vizsgálatban a 22c vegyület R-enantiomerjét és a 22b vegyület R-enantiomerjét hasonlítottuk össze. Mindkét vegyület teljesen mentes a neuromuszkuláris toxicitástól. A letális dózis/korlátozó toxicitás értékek hasonlóak (GI-epiteliális károsodás).

A vizsgálatba 19,2 átlagos testtömegű C3H nőtény egereket vontunk be, az egerek származási helye: N. C. I. (Sz. D. 2001. január 22., É. D. 2001. január 27.).
15 Az egerekbe szubkután 170-szer passzált emlő adenokarcinóma 16/C-t ültettünk, ez egy gyorsan növekedő, igen invazív, áttetre erősen hajlamos tumor (T. B. D. 2001. március 8., Td = 1,2 nap).

Mind a 22c vegyület, mind a 22b vegyület R-enantiomerjét 3 % etanolban szuszpendáljuk, és 1 % POE-80-nal és 0,5 % nátrium-hidrogén-karbonáttal segítjük
20 elő az oldódást (térfogatszázalékok), majd az oldathoz foszfáttal pufferolt sóoldatot adunk, és pH-ját HCl hozzáadásával 7-re állítjuk be. Adriamicint (ADRIA; tételszám: 20338c) szuszpendálunk dH₂O-ban és az oldódás elősegítésére a pH-t 6,0-ra állítjuk. Az egereknek 0,2 ml oldatot adunk be IV injekció formájában.

Az #1. ketrecben lévő állatok nem kaptak kezelést, a tumornövekedés a várt-
25 nak megfelelő. A tumorok az 1000 mg tömeget a 9,5. napon érték el (7 – 12. nap tartomány, Td = 1,0 nap).

A #2. ketrecben lévő állatoknak a 22c vegyület R-enantiomerjét adagoltuk intravénán 65 mg/kg/injekció mennyiségben az 1 – 4. napokon, összesen 260 mg/kg mennyiségben. Az injektálásokat követően nem észleltünk neuromuszkuláris toxicitást.
30 Az utolsó kezelést követő 2 – 3 nap múlva minden egér elpusztult GI-epiteliális károsodás folytán.

A #3. ketrecben lévő egereknek a 22c vegyület R-enantiomerjét adagoltuk intravénásan 65 mg/kg/injekció dózisban minden 2. napon (az 1., 3., 5. és 7. napok mindegyikén egyszer), összesen 260 mg/kg mennyiségben. Ennél az analóg sorozatnál a gazdaszervezet felépülése igen gyors, pusztulás nem következik be. Az egerek -8,3 %-os testtömeg-vesztést mutattak (a mélypont a 9. napon jelentkezett, a teljes felépülés a 12. napon következett be), ami azt jelzi, hogy az össz-dózis ilyen váltakozó adagolási rend mellett megfelelő, nem túlzott. Ennél az adagolási rendnél neuromuszkuláris toxicitás sem jelentkezett. A dózis aktívnek bizonyult (T/C = 4 %, log pusztulás = 1,7, ++ aktivitás mérték).

A #4. ketrecben lévő egereknek a 22c vegyület R-enantiomerjét adagoltuk intravénásan 40 mg/kg/injekció mennyiségben a #3. ketrecben tartott állatokénál alkalmazottal azonos adagolási rend szerint (azaz az 1., 3., 5. és 7. napon), az össz-dózis 160 mg/kg. Nem észleltünk toxicitást, és az egerek tömeggyarapodást mutattak a kezelés során (+6,4 % tömeggyarapodás). Ez a dózis is aktívnek bizonyult (T/C = 9 %, log pusztulás = 1,4 és 1/5 gyógyult, ++ aktivitás mérték, ha a gyógyulást nem vesszük figyelembe). A tumormentes egérbe a 155. napon ismét Mam 16/C tumort ültettünk be. Az implantátum sikeresen növekedett, ami azt jelzi, hogy az eredeti gyógyulásban nem volt részük immunogén faktoroknak.

Az #5. ketrecben lévő egereknek a 22b vegyület R-enantiomerjét adagoltuk intravénásan 50 mg/kg/injekció mennyiségben az 1 – 5. napokon, összesen 250 mg/kg mennyiségben. Az injekciókat követően nem jelentkezett neuromuszkuláris toxicitás. Ez a dózis túlzott súlyvesztést eredményezett, de pusztulást nem okozott. Az egerek mindegyike 5 napon belül visszanyerte testtömegét (-22,9 % testtömeg-vesztés a 8. napon, teljes felépülés a 13. napon, ami azt jelzi, hogy a tömegvesztés egy része dehidratációból származott). Ez a dózis igen aktívnek bizonyult (T/C = 0 %, log pusztulás = 2,1, +++ aktivitás mérték).

A #6. ketrecben lévő egereknek a 22b vegyület R-enantiomerjét adagoltuk intravénásan 50 mg/kg/injekció mennyiségben az 1., 3., 5. és 7. napon, összesen 200 mg/kg mennyiségben. Ez a dózis jól tolerálható volt, nem okozott tömegvesztést. Aktívnek bizonyult (T/C = 5 %, log pusztulás = 1,7, ++ aktivitás mérték). Valószínű, hogy ezzel az adagolási renddel nagyobb dózist is beadhattunk volna, erre a tömegvesztés hiányából következtetünk.

A #7. ketrecben lévő egereknek a 22b vegyület R-enantiomerjét adagoltuk intravénásan 30 mg/kg/injekció dózisban a #6. ketrecben lévő állatokéhoz hasonló adagolási rend szerint összesen 120 mg/kg mennyiségben. Az egerek testtömege gyarapodott. Ez a dózis mérsékelten aktívnak bizonyult (T/C = 32 %, log pusztulás = 0,8, + aktivitás mérték).

A #11. ketrecben lévő egereknek pozitív kontrollként adriamicint adagoltunk. Történetileg az adriamicin az ezen tumor elleni legaktívabb szerek egyike. 7,5 mg/kg/injekció Dózist adtunk be intravénásan az 1. és 5. napon, azaz összesen 15 mg/kg mennyiséget. Miközben testtömeg-vesztést nem észleltünk, az egerek a 11. napig nem is gyarapodtak, azt követően csak szerényen. Egy késleltetett gyógyszerhatásnak tulajdonított pusztulás következett be ebben a csoportban. Amint várható volt, ez a szer igen aktív (T/C = 0 %, log pusztulás = 3,6, ++++ aktivitás mérték, bár toxikus dózisban).

Azokban a dózisokban, amelyek 10 %-nál kisebb tömegvesztést eredményeztek, a 22b vegyület R-enantiomerje és a 22c vegyület R-enantiomerje egyformán aktív, mindkettőnél log pusztulás = 1,7 (lásd a #3. és #6. ketrecek állatainál). Az azonos hatású dózisoknál a 22b vegyület R-enantiomerjéből némileg kisebb dózis szükséges (200 mg/kg, lásd a #6. ketrec állatainál), mint a 22c vegyület R-enantiomerjéből (260 mg/kg, lásd a #4. ketrec állatainál).

Eredményeinket a 6. táblázatban mutatjuk be.

G TESZT

A 22c vegyület és a 22b vegyület R-enantiomerjei hatásának értékelése kifejelett pankreászvezeték adenokarcinóma-03-mal szemben

Ebben a vizsgálatban a 22c és 22b vegyületek R-enantiomerjeit hasonlítjuk össze.

A vizsgálatba 22,5 g átlagos testtömegű BDF1 nőstény egereket vonunk be, származási helyük: N. C. I., CRL-Ral (Sz. D. 2001. február 26., É. D. 2001. március 10.). Az egerekbe szubkután 143-szor passzált pankreászvezeték adenokarcinóma-03-t ültettünk be (T. B. D. 2001. május 29., Td = 2,3 nap).

A 22c vegyület R-enantiomerjét 3 % etanolban szuszpendáljuk 1 % POE-80-nal, és 0,25 % nátrium-hidrogén-karbonáttal segítjük az oldódást (térfogatszázalékok értendők). Ezután dH₂O-t adunk az oldathoz, és pH-ját HCl adagolásával 7-re áll-

lítjuk. Az egereknek 0,2 ml térfogatú intravénás injekciót adunk. A 22b vegyület R-enantiomerjét 3 % etanolban szuszpendáljuk 1 % POE-80-nal, és 0,5 % nátrium-hidrogén-karbonáttal segítjük az oldódást (térfogatszázalékok értendők). Ezután dH₂O-t adunk az oldathoz, és pH-ját HCl adagolásával 7,5-re állítjuk. Az egereknek 0,2 ml térfogatú intravénás injekciót adunk vagy orálisan adagoljuk a fenti mennyiséget. Adriamicint (forrása ADRIA, tételszám 2033BC) dH₂O-ban szuszpendálunk és oldunk, pH-ját 6,0-ra állítjuk be. Az egereknek az oldatból 0,2 ml-t adunk be intravénás injekcióként.

A kezelést a tumor beültetését követően 6 nap múlva kezdjük meg, erre az időre a tumorok tapintható méretűek (átlagosan 126 mg tömegűek). A kezelés időtartamát megnyújtjuk (18 nap), hogy a vegyületek hatékonyságának egyértelmű elválasztását nyerjük.

Az #1. ketrecben lévő állatok nem kaptak kezelést, a tumornövekedés a vártnak megfelelő. A tumor az 1000 mg tömeget a 16,5. napon éri el (15 – 21 nap tartomány, Td = 2,3 nap),.

A #2. ketrecben lévő egereknek a 22b vegyület R-enantiomerjét adtuk be intravénásan 80 mg/kg/injekció mennyiségben váltakozó adagolási rend szerint (egyszer naponta a 6., 9., 12., 15., 18., 21. és 24. napokon), összesen 560 mg/kg mennyiségben. Ezt az adagolási rendet az állatok jól tűrték, sem tömegvesztés, sem pusztulás nem következett be. Az állatok az intravénás injekciót követően izgatottak voltak, de ez a viselkedés csak néhány percre tartott. Az R-enantiomernél nem észleltünk neuromuszkuláris toxicitást. A dózis aktívnak bizonyult [log pusztulás = 2,3, 2/7 PR (részleges regresszió), +++ aktivitás mérték]. Ez az adagolási rend egyértelműen rosszabb, mint a 22c vegyület R-enantiomerjénél.

A #3. ketrec egereinek a 22b vegyület R-enantiomerjét adagoltuk intravénásan 50 mg/kg/injekció mennyiségben váltakozó adagolási rend szerint (naponta egyszer a 6., 9., 12., 15., 18., 21. és 24. napokon), összesen 350 mg/kg mennyiségben. Ezt az adagolási rendet az állatok jól tűrték, sem tömegvesztés, sem pusztulás nem következett be. Ez a dózis aktív [log pusztulás = 1,5, 1/6 CR (teljes regresszió), ++ aktivitás mérték].

A #4. ketrec egereinek a 22b vegyület R-enantiomerjét adagoltuk intravénásan 31 mg/kg/injekció mennyiségben váltakozó adagolási rend szerint (naponta egy-

szer a 6., 9., 12., 15., 18., 21. és 24. napon), összesen 217 mg/kg mennyiségben. Ezt az adagolási rendet az állatok jól tűrték, jelentős tömeggyarapodás következett be. Ez a dózis nem aktív (log pusztulás = 0,5, - aktivitás mérték).

Az #5. ketrecben lévő egereknek a 22b vegyületet (R-enantiomer) adagoljuk szubkután, 31,2 mg/kg/injekció mennyiségben napi adagolási renddel (a 6 – 24. napig), összesen 592,8 mg/kg mennyiségben. Az adagolási rendet az állatok jól tolerálják, csak kis tömegvesztés jelentkezik és pusztulás nem következik be. Az egerek nem zaklatottak a szubkután injekció beadását követően. Ez a dózis csak mérsékelten aktív (log pusztulás = 0,9, 1/5 CR, + aktivitás mérték). Az egyetlen tumormentes egérbe ismételtén beültetünk P03 30 mg-os tumor fragmentumokat a 157. napon. Az implantátum növekszik, jelezve, hogy az eredeti gyógyulásban nem volt szerepük immun-tényezőknek. A fenti szubkután napi adagolási rend egyértelműen jobb, mint az intravénás váltakozó adagolás (lásd a #2. ketrec állatainál).

A #6. ketrec állatainak a 22b vegyületet (R-enantiomer) adagoljuk szubkután 19,5 mg/kg/injekció mennyiségben napi adagolási rend szerint (a 6 – 24. napokon), összesen 370,5 mg/kg mennyiséget adunk be. Ezt az adagolási rendet az állatok jól tolerálják, sem tömegvesztés, sem pusztulás nem mutatkozik. Az egerek a szubkután injekció beadását követően nem zaklatottak. Ez a dózis nem aktív (log pusztulás = 0,4, - aktivitás mérték). Ez a szubkután adagolási rend egyértelműen rosszabb, mint az intravénás szakaszos adagolási rend (lásd a #3. ketrec állatainál).

A #12. ketrec egereinek a 22c vegyületet (R-enantiomer) adagoljuk. Csak korlátozott mennyiségben volt hozzáférhető a hatóanyag, így csak az intravénás dózisszintet vizsgáltuk, és csoportonként csak 4 egeret alkalmaztunk. A 22c vegyületet intravénásan adagoltuk 80 mg/kg/injekció mennyiségben váltakozó adagolási rend szerint (naponta egyszer a 6., 9., 12., 15., 18. és 21. napokon), összesen 480 mg/kg mennyiségben. A 24. napon elhagytuk az injekció beadását, mivel már kimerült a gyógyszerutánpótlás. Az adagolási rendet az állatok jól tolerálták, sem tömegvesztés, sem pusztulás nem jelentkezett. Az egerek az intravénás injekció után zaklatottak voltak, de ez a viselkedésük csak néhány percig tartott. Ennél a vegyületnél némileg nagyobb zaklatottságot észleltünk, mint a 22b vegyület esetén. Az R-enantiomernél nem jelentkezik neuromuszkuláris toxicitás. Ez a dózis igen hatékonynak bizonyult (log pusztulás = 3,1, 3/4 teljes regresszió, ++++ aktivitás mérték). A 22c ve-

gyületnek ez a dózis-rendje jelentősen jobb, mint a 22b vegyületé a pankreászvezeték adenokarcinóma ellen.

A #13. ketrec állatainak adriamicint adagoltunk pozitív kontrollként. Történetileg az adriamicin igen aktív e tumor ellen. 7,5 mg/kg/injekció Dózist adtunk be intravénásan a 6. és a 14. napon, összesen 15 mg/kg mennyiséget (ez közelítőleg a maximális tolerált dózis). Ezt a dózist a vizsgálatban az állatok jól tolerálták, sem tömegvesztés, sem pusztulás nem következett be. A szer a várakozásnak megfelelően aktívnak bizonyult (log pusztulás = 2,3, 1/5 CR, +++ aktivitás mérték).

Az R-enantiomer 22c vegyület jelentősen jobbnak bizonyult, mint a váltakozó adagolási rend szerint intravénásan adagolt 22b vegyület. A váltakozó intravénás adagolási rend egyértelműen jobb, mint a napi orális adagolás.

Eredményeinket a 7. táblázatban mutatjuk be.

H TESZT

XK-469, 22b vegyület és 22c vegyület R-enantiomerjei hatásának értékelése
nőstény Balb/c egereken előrehaladott stádiumú bél-karcinóma 26 ellen

Ebben a vizsgálatban az XK-469, a 22c vegyület és a 22b vegyület R-enantiomerjeit hasonlítjuk össze előrehaladott stádiumú bél-karcinóma 26 ellen nőstény Balb/c egereken. A 22c vegyület jelentősen hatásosabb, mint a 22b vegyület vagy az XK-469 vegyület ezen bél-karcinóma ellen. A #2. ketrec állatainak 22b vegyületet adagoltunk 400 mg/kg mennyiségben, a #4. ketrec állatainak 22c vegyületet adagoltunk ugyancsak 400 mg/kg mennyiségben. Mindkettő toxikusnak bizonyult, így a táblázatba nem kerültek be.

A „*” csillag jelölés azt jelzi, hogy a tumor erősen áttetre képes és toxikus, jelentős tömegvesztést okoz. A kezelt csoportokban a tömegvesztést azt megelőzően határoztuk meg, mielőtt a tumor jelentős hatást fejtett volna ki.

Az XK-469-R, 22b és 22c vegyületek dózisait azonos módon készítettük 3 % etanol, 1 % POE-80 és 0,5 % nátrium-hidrogén-karbonát alkalmazásával. Az intravénásan beinjektált térfogat 0,2 ml. A citoxánt dH₂O-ban formáltuk, és intravénásan injektáltuk 0,2 ml térfogatban egerenként. A vizsgálatba bevont egerek az Rx adagolás kezdetén átlagosan 24,7 g testtömegű nőstény Balb/c egerek voltak (Sz. D. 2001. február 12.; É. D. 2001. március 27.; T. B. D. 2001. augusztus 8.). A tumor 141 passzálon átment bél-karcinóma 26, a beültetés ideje 2001. augusztus 8., és

30 – 60 mg-os fragmentumok kétoldali szubkután beültetése történt. Minden tumor 63 – 171 mg tömegű volt a 6. napon, az első Rx napján.

Az #1. ketrec a kontroll, a növekedés a várakozásnak megfelelő, $T_d = 1,7$ nap.

5 A #3. ketrec állatainak a 22b vegyületet adagoltuk 50 mg/kg/injekció mennyiségben intravénásan a 6., 8., 10., 13. és 15. napon, összesen 250 mg/kg mennyiségben. Ennek hatására 1/6 teljes regressziót észleltünk, és a log pusztulás érték 1,4 (++ aktivitás mérték).

10 Az #5. ketrecben lévő állatoknak a 22c vegyületet adagoltuk 50 mg/kg/injekció mennyiségben intravénásan a 6., 8., 10., 13. és 15. napon, összesen 250 mg/kg mennyiségben. Ennek hatására 3/6 teljes regresszió következett be és 3/6 tumormentes túlélő volt az 55. napon. Ezek az egerek kiváló állapotban maradtak, tömegük gyarapodott és csontvázuk mérete növekedett. Ezekbe az egerekbe a 156. napon 30 mg-os Colon-26 fragmentumokat ültettünk be, ezek az implantátumok sikeresen növekedtek jelezve, hogy az eredeti gyógyulásban nem volt szerepe immun-tényezőnek (++++ aktivitás mérték).

20 A #6. ketrec állatainak XK-469-R vegyületet adagoltunk 80 mg/kg/injekció mennyiségben intravénásan a 6., 8., 10., 14. és 16. napon, összesen 400 mg/kg mennyiségben. (Történetileg az MTD érték a 400 – 450 mg/kg tartományba eső.) Regressziót nem észleltünk. Ennél a dózisonál log pusztulás = 0,9 (+ aktivitás mérték).

A #7. ketrec állatainak XK-469-R-t adtunk 50 mg/kg/injekció mennyiségben intravénásan a 6., 8., 10., 13. és 15. napon, összesen 250 mg/kg mennyiségben. Ez a dózis inaktívnak bizonyult.

25 A #8. ketrec állatainak citoxánt injektáltunk be intravénásan 110 mg/kg/injekció mennyiségben a 6. és 10. napon, összesen 220 mg/kg mennyiségben. Nem észleltünk értékelhető aktivitást. Történetileg a citoxán ezen tumor ellen aktív, ha a kezelés az 1. napon kezdődik (a beültetést követő napon).

Eredményeinket a 8. táblázatban mutatjuk be.

30 A következőkben a találmányt példákban mutatjuk be a korlátozás szándéka nélkül.

1. PÉLDA

{4-[(7-Helyettesített-2-kinolinil)oxi]fenoxi}propionsavak szintézise (1 – 3. reakcióvázlat)

Az 1. reakcióvázlatban a (4) képletű transz-3-etoxiakriloil-klorid egyedényes előállítását mutatjuk be (2) képletű etil-vinil-éter és (3) képletű oxalil-klorid reagáltatásával, majd ezt követő dekarboxilezéssel, amely reakciót Tietze és munkatársai írtak le [Synthesis, 1079 – 1080 (1993)]. Az (5a-e) képletű meta-helyettesített anilinnak (4) képletű vegyülettel való amidálása, azaz a (6a-e) képletű vegyületekké való konverziója Campbell és Roberts eljárása szerint történt (lásd az US 4 710 507 számú szabadalmi leírásban), a termék transz-N-(4-bróm-3-metilfenil)-3-etoxipropenamid. Ez utóbbit tömény kénsav vagy hidrogén-klorid (Campbell és Roberts) alkalmazásával ciklizáljuk az 5-helyettesített (8a-e) és a 7-helyettesített (7a-e) képletű kinolin-2-ol-származékok elegyév. Az elegyet ezután a megfelelő 2-klórkinolin-származékká [(9a-e) és (10a-e)] transzformáljuk foszfor-oxikloriddal visszafolyatós hűtő alatt történő forralás révén (Campbell és Roberts). A 7-helyettesített származékok (9a-e) többségét frakcionált kristályosítással választjuk el a regioizomer (10a-e) vegyületektől. A visszamaradó anyagból szilikagélen végzett oszlopkromatográfiás eljárással további (9a-c) vegyületet nyertünk.

Amint a 2. reakcióvázlatból látható, a (9a-e) képletű 2-klórkinolinokat (20) képletű 2-(4-hidroxifenoxi)propionsavval kapcsoljuk NaH vagy K₂CO₃ alkalmazásával DMF-ben visszafolyatós hűtő alatt forralva, majd az elegyet megsavanyítva, így a (21a-e) képletű savakat nyerjük. Ezeket a savakat fém-hidroxiddal reagáltatva a megfelelő (22a-e) képletű fémsókká is alakíthatjuk. Az XK-469-t, amely egyetlen sztereogén centrummal bír a propionsav-egység 2-helyzetű szénatomján, általában racém elegy formájában készítjük el. A (21b) és (21c) képletű vegyületek R-(+) formáit kereskedelmi forgalomban beszerezhető R-(+)-2-(4-hidroxifenoxi)propionsav (9b) és (9c) vegyületekkel való éterezésével állítjuk elő. A (21b) és (21c) vegyületek R-formáinak királis HPLC oszlopon való vizsgálata azt jelezte, hogy mindkét vegyületet >99 % enantiomeres tisztasággal nyertük (lásd a 2. ábrán).

A racém és R (21b) képletű vegyületek HPLC elválasztását ASTEC Chirobiotic T250 x 4,6 mm-es oszlopon végeztük, 65 % H₂O, 35 % CH₃OH,

20 mmol/liter NH_4NO_3 alkalmazásával 1 ml/perc áramlási sebességgel, 250 nm-nél történő detektálással.

Általános vizsgálati eljárások

A 7-helyettesített-2-klórkinolin és 2-(4-hidroxifenoxi)propionsav (1 ekvivalens) DMF-ben (5 ml/mmol) készült oldatához részletekben hozzáadunk 3 ekvivalens 60 %-os NaH-t, és az elegyet visszafolyató hűtő alatt enyhe forrásban tartjuk 2 órán át. Ezután az elegyet lehűtjük, és besűrítjük, a kapott szilárd anyaghoz vizet adunk, az oldatot celiten szűrjük, majd vízzel mossuk. A szűrletet éterrel extraháljuk, a vizes fázist 1 mol/literes HCl oldattal pH = 3 – 4-re savanyítjuk. Lehűtés után a kapott szilárd anyagot összegyűjtjük, szárítjuk, etil-acetátban oldjuk, és szilikagélen szűrjük. A szűrletet kis térfogatra sűrítjük be, a szilárd anyagot összegyűjtjük, és etil-acetát és heptán elegyből átkristályosítjuk.

A reagáltatást végezhetjük 2,5 ekvivalens K_2CO_3 alkalmazásával is NaH helyett, de ebben az esetben a reakció időtartamát mintegy 12 órára kell növelni.

2-{4-[(7-Fluor-2-kinolinil)oxi]fenoxi}propionsav [(21a), 0,14 g, 43 % NaH alkalmazásával) halványsárga kristályok, olvadáspont 135 – 137 °C;

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 13,08 (széles s, 1H), 8,38 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 7,99 (dd, $J=8,8, 6,4$ Hz, 1H), 7,40 – 7,32 (m, 2H), 7,18 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 7,17 - 7,12 (m, 2H), 6,94 – 6,89 (m, 2H), 4,82 (q, $J=6,8$ Hz, 1H), 1,51 (d, $J=6,4$ Hz, 3H);

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ 173,9, 163,6 (d, $J=245,5$ Hz), 163,2, 155,2, 147,6 (d, $J=12,7$ Hz), 147,3, 141,0, 130,8 (d, $J=10,4$ Hz), 123,4, 123,2, 116,1, 115,1 (d, $J=24,5$ Hz), 112,71, 111,7 (d, $J=20,8$ Hz), 72,5, 19,0;

^{19}F NMR (376 MHz, DMSO-d_6): δ 76,33 (m);

MS (EI) m/z (%) 327 (M^+ , 59), 282 (15), 268 (15), 254 (67), 238 (8), 226 (4), 209 (4), 198 (3), 151 (5), 146 (100), 126 (12), 119 (7), 91 (7);

HRMS (EI) m/z: 327,0910 (M^+ , a $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{NFO}_4$ képletre számítva 327,0907).

2-{4-[(7-Klór-2-kinolinil)oxi]fenoxi}propionsav [(21b), 84 % K_2CO_3 alkalmazásával) fehér kristályok, olvadáspont 149 – 150 °C;

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 13,05 (széles s, 1H), 8,40 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 7,96 (d, $J=8,4$ Hz, 1H), 7,66 (d, $J=2,8$ Hz, 1H), 7,48 (dd, $J=8,8, 2,4$ Hz, 1H), 7,24 (d, $J=8,0$ Hz, 1H), 7,18 – 7,13 (m, 2H), 6,94 – 6,89 (m, 2H), 4,82 (q, $J=6,4$ Hz, 1H), 1,51 (d, $J=7,2$ Hz, 3H);

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ 173,6, 162,8, 155,0, 147,1, 146,6, 140,6, 135,0, 129,9, 126,1, 125,6, 124,3, 123,0, 116,0, 113,5, 72,4, 18,7;

MS (EI) m/z (%) 343 (M^+ , 46), 298 (15), 284 (16), 270 (71), 254 (8), 236 (6), 167 (19), 162 (100), 155 (8), 127 (22), 114 (10), 97 (11), 91 (24), 83 (16), 81 (12),

73 (19), 71 (14), 69 (23), 67 (12), 63 (12), 60 (17), 57 (27), 55 (35), 45 (18);

HRMS (EI) m/z : 343,0609 (M^+ , a $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{NClO}_4$ képletre számítva 343,0611);

Elemzési eredmények a $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{NClO}_4$ képletre

számított: C = 62,89 H = 4,10 N = 4,08,

talált: C = 63,00 H = 4,18 N = 4,12.

Az R-(+)-2-{4-[(7-klór-2-kinolinil)oxi]fenoxi}propionsavat kereskedelmi forgalomban beszerezhető R-(+)-2-(4-hidroxifenoxi)propionsavból állítjuk elő. A termék minden tekintetben azonos a racém termékkel, optikai forgatása $[\alpha]^{25} + 19^\circ$, C = 0,5, 0,1 n NaOH.

2-{4-[(7-Bróm-2-kinolinil)oxi]fenoxi}propionsav [(21c), 0,69 g, 70 % NaH alkalmazásával) fehér kristályok, olvadáspont 160 – 161 °C;

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 13,09 (széles s, 1H), 8,39 (d, J=8,8 Hz, 1H), 7,88 (d, J=9,2 Hz, 1H), 7,80 (d, J=1,6 Hz, 1H), 7,60 (dd, J=9,2, 1,6 Hz, 1H), 7,25 (d, J=8,8 Hz, 1H), 7,18 – 7,13 (m, 2H), 6,94 – 6,89 (m, 2H), 4,82 (q, J=6,8 Hz, 1H), 1,51 (d, J=7,2 Hz, 3H);

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6): δ 173,9, 163,0, 155,3, 147,2, 147,1, 141,0, 130,3, 129,6, 128,5, 124,9, 124,0, 123,3, 116,1, 114,0, 72,5, 19,1;

MS (EI) m/z (%) 387 (M^+ , 42), 342 (10), 328 (10), 314 (31), 300 (6), 285 (7), 256 (22), 236 (13), 206 (53), 199 (18), 185 (10), 171 (8), 157 (8), 127 (44), 115 (15), 111 (13), 97 (27), 91 (28), 83 (33), 73 (57), 69 (45), 60 (58), 57 (56), 55 (69), 43 (100), 41 (66);

HRMS (EI) m/z : 387,0107 (M^+ , a $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{NBrO}_4$ képletre számítva 387,0106);

Elemzési eredmények a $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{NBrO}_4$ képletre

számított: C = 55,69 H = 3,63 N = 3,61;

talált: C = 55,52 H = 3,89 N = 3,56.

Az R-(+)-2-{4-[(7-bróm-2-kinolinil)oxi]fenoxi}propionsavat kereskedelmi forgalomban beszerezhető R-(+)-2-(4-hidroxifenoxi)propionsavból állítjuk elő. A termék

minden tekintetben azonos a racém termékkel, optikai forgatása $[\alpha]^{25} + 22,0^\circ$, $C = 0,5, 0,1 \text{ n NaOH}$.

2-{4-[(7-Metil-2-kinolinil)oxi]fenoxi}propionsav [(21d), 32 % hozam NaH alkalmazásával) halványsárga kristályok, olvadáspont $183 - 185^\circ\text{C}$;

5 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): δ 13,03 (széles s, 1H), 8,29 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 7,78 (d, $J=8,0$ Hz, 1H), 7,43 (s, 1H), 7,28 (d, $J=8,4$ Hz, 1H), 7,16 – 7,10 (m, 3H), 6,93 – 6,89 (m, 2H), 4,82 (q, $J=6,4$ Hz, 1H), 2,41 (s, 3H), 1,51 (d, $J=6,4$ Hz, 3H);

10 $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): δ 173,9, 162,4, 155,1, 147,6, 146,6, 140,6 (2C), 128,0, 127,4, 127,0, 124,0, 123,4, 116,1, 112,3, 72,5, 21,9, 19,1;

MS (EI) m/z (%) 323 (M^+ , 57), 305 (6), 278 (9), 276 (7), 264 (13), 250 (60), 236 (10), 234 (6), 222 (5), 142 (100), 115 (17), 105 (6), 77 (6);

HRMS (EI) m/z : 323,1164 (M^+ , a $C_{19}H_{17}NO_4$ képletre számítva 323,1158).

15 2-{4-[(7-Metoxi-2-kinolinil)oxi]fenoxi}propionsav [(21e), 60 % hozam K_2CO_3 alkalmazásával) halványsárga kristályok, olvadáspont $164 - 166^\circ\text{C}$;

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): δ 13,06 (széles s, 1H), 8,25 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 7,78 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 7,16 – 7,10 (m, 2H), 7,06 (dd, $J=8,8, 2,4$ Hz, 1H), 7,02 (d, $J=8,0$ Hz, 1H), 6,99 (d, $J=2,4$ Hz, 1H), 6,94 – 6,88 (m, 2H), 4,82 (q, $J=6,4$ Hz, 1H), 3,81 (s, 3H), 1,51 (d, $J=7,2$ Hz, 3H);

20 $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): δ 174,0, 162,9, 161,5, 155,1, 148,3, 147,7, 140,5, 129,5, 123,4, 120,9, 117,5, 116,1, 110,5, 107,0, 72,5, 56,1, 19,1;

MS (EI) m/z (%) 339 (M^+ , 62), 323 (10), 294 (8), 280 (13), 266 (35), 250 (13), 157 (7), 158 (100), 142 (18), 115 (10), 77 (6);

HRMS (EI) m/z : 339,1105 (M^+ , a $C_{19}H_{17}NO_5$ képletre számítva 339,1107).

25 2. PÉLDA

Az alábbiakban jellemző gyógyászati dózisformákat mutatunk be emberek számára terápiás vagy megelőzési célra, a készítmények az (I) általános képletű vegyületet tartalmazzák („X vegyület”).

(i) 1. Tabletta:	mg/tabletta
„X vegyület”	100,0
Laktóz	77,5

Povidon	15,0
Kroszkarmellóz-nátrium	12,0
Mikrokristályos cellulóz	92,5
Magnézium-sztearát	3,0
Összesen	300,0
(ii) 2 Tabletta:	mg/tabletta
„X vegyület”	20,0
Mikrokristályos cellulóz	410,0
Keményítő	50,0
Nátrium-keményítő-glikolát	15,0
Magnézium-sztearát	5,0
Összesen:	500,0
(iii) Kapszula:	mg/kapszula
„X vegyület”	10,0
Kolloidális szilícium-dioxid	1,5
Laktóz	465,5
Előzselatinált keményítő	120,0
Magnézium-sztearát	3,0
Összesen:	600,0
(iv) 1. injekció (1 mg/ml):	mg/ml
„X vegyület” (szabad sav forma)	1,0
Dibázisos nátrium-foszfát	12,0
Monobázisos nátrium-foszfát	0,7
Nátrium-klorid	4,5
1,0 n nátrium-hidroxid-oldat (a pH 7,0 – 7,5-re való beállítására)	szükség szerint
Injekciós minőségű víz	szükség szerint ki- egészítésül 1 ml-re
(v) 2. injekció (10 mg/ml):	mg/ml
„X vegyület” (szabad sav forma)	10,0
Monobázisos nátrium-foszfát	0,3
Dibázisos nátrium-foszfát	1,1

Polietilén-glikol 400	200,0
0,1 n nátrium-hidroxid-oldat (a pH 7,0 – 7,5-re való beállítására)	szükség szerint
Injekciós minőségű víz	szükség szerint ki- egészítésül 1 ml-re
(vi) Aeroszol:	mg/doboz
„X vegyület”	20,0
Olajsav	10,0
Triklórmonofluormetán	5 000,0
Diklórdifluormetán	10 000,0
Diklórtetrafluoretán	5 000,0

A fenti készítmények a gyógyszerkészítésben jól ismert szokásos eljárásokkal állíthatók elő.

5 Az említett közlemények, szabadalmak és szabadalmi dokumentumok mind-egyikét egyedileg referenciaként építjük leírásunkba. A találmányt különböző sajátos és előnyös megvalósítási módokra és eljárásokra való hivatkozással írtuk le, azonban nyilvánvaló, hogy ezek számos változata és módosítása is a találmány szellemébe és oltalmi körébe tartozik.

1. TÁBLÁZAT

Értékelés korai fázisú pankreászvezeték adenokarcinóma 03-mal szemben												
A #.	Hatóanyag	Az injekciók száma	Össz-dózis mg/kg	% Testtömegvesztés a mélypontnál	A mélypont napja	Pusztulás gyógyszer hatására	Átlagos tumortömeg a 14. napon (tartomány)	% T/C Tömeg	Gyarapodáskésés napokban	Log pusztulás	Tumormentes a 37. napon	Aktivitás mérték
1.	nincs	0	0	+12 %	10	–	1513 (681-2149)	–	–	–	0/5	–
7.	22b	7	336	-8,9 %	11	0/5	0 (0-126)	0 %	17,5	2,6	0/5	+++

2. TÁBLÁZAT

Értékelés korai fázisú melanómával szemben												
A #.	Hatóanyag	Az injekciók száma	Össz-dózis mg/kg	% Testtömegvesztés a mélypontnál	A mélypont napja	Pusztulás gyógyszer hatására	Átlagos tumortömeg a 9. napon (tartomány)	% T/C Tömeg	Gyarapodáskésés napokban	Log pusztulás	Tumormentes a 24. napon	Aktivitás mérték
1.	nincs	0	0	+7,4%	8	–	1415 (648-2224)	–	–	–	0/5	–
2.	22b	8	320	-20,8 %	7	1/5	0 (mind nulla)	0 %	12,5	3,8	0/5	++++ toxikus
3.	22b	5	250	-13,2 %	8	0/5	0 (mind nulla)	0 %	8,5	2,6	0/5	+++
4.	22b	6	180	-7,4 %	5	0/5	221 (63-334)	15,6 %	6,0	1,8	0/5	++

3. TÁBLÁZAT

Értékelés korai fázisú emlő adenokarcinóma 16/C/Adr-rel szemben												
A #.	Hatóanyag	Az injekciók száma	Össz-dózis mg/kg	% Testtömegvesztés a mélypontnál	A mélypont napja	Pusztulás gyógyszer hatására	Átlagos tumortömeg a 11. napon (tartomány)	% T/C Tömeg	Gyarapodáskésés napokban	Log pusztulás	Tumormentes a 18. napon	Aktivitás mérték
1.	nincs	0	0	-2,7 %	7	–	1410 (447-3052)	–	–	–	0/6	–
2.	22b	12	504	-15,0 %	7	0/6	0 (0-308)	0 %	8,0	2,0	0/6	+++
3.	22b	12	324	-1,1 %	7	0/6	741 (516-1199)	53 %	2,25	0,6	0/6	–

4. TÁBLÁZAT

A racém 22c vegyület értékelése korai fázisú emlő adenokarcinóma 17/Adr-rel szemben nőstény C3H egerekben												
A #.	Hatóanyag	Az injekciók száma	Össz-dózis mg/kg	% Testtömegvesztés a mélypontnál	A mélypont napja	Pusztulás gyógyszer hatására	Átlagos tumortömeg a 10. napon (tartomány)	% T/C Tömeg	Gyarapodáskésés napokban	Log pusztulás	Tumormentes a 42. napon	Aktivitás mérték
1.	Rx nincs	0	0	+1,4 %	9	–	3044 (2385-3402)	–	–	–	0/5	–
3.	racém 22c	6	352,5	-5,5 %	11	0/5	0 (0-63)	0 %	14	4,2	0/5	++++
4.	racém 22c	6	211,5	-4,1 %	13	0/5	172 (0-344)	5,6 %	10	3,0	0/5	++++

5. TÁBLÁZAT

A 22a vegyület és 22b R-enantiomer vegyület értékelése korai fázisú emlő adenokarcinóma 17/Adr-rel szemben nőstény C3H egerekben												
A #.	Hatóanyag intravénásan	Az injekciók száma	Össz-dózis mg/kg	% Testtömegvesztés a mélypontnál	A mélypont napja	Pusztulás gyógyszer hatására	Átlagos tumortömeg a 9. napon (tartomány)	% T/C Tömeg	Gyarapodás napokban	Log pusztulás	Tumormentes a 23. napon	Aktivitás mérték
1.	nincs	0	0	-2,3 %	6	–	960 (828-1357)	–	–	–	0/5	–
3.	22a	7	324	-1,6 %	5	0/5	138 (63-207)	14 %	5	1,5	0/5	++
4.	22a	7	162	-1,5 %	5	0/5	975 (252-1836)	>100%	1	0,3	0/5	–
5.	22a	7	81	-3,0 %	5	0/5	743 (725-1413)	77 %	1	0,3	0/5	–
6.	R-22b	4	332	-17,5 %	6	5/5	toxikus	toxikus	–	–	0/5	toxikus
7.	R-22b	4	220	-23,4 %	9	1/5	0 (mind nulla)	0 %	13	3,3	0/5	++++
8.	R-22b	1	124,5	0	9	0/1	340 (egy egér)	35 %	3	0,8	0/1	+

6. TÁBLÁZAT

A 22b vegyület R-enantiomerje és a 22c vegyület R-enantiomerje értékelése korai fázisú emlő adenokarcinóma-16/C-vel szemben													
A #. ket- rec	Ható- anyag intravén- násan	Az injekci- ók beadá- sának rendje (nap)	Össz- -dózis mg/kg	% Testtö- megvesz- tés a mélypont- nál	A mély- pont napja	Pusztulás gyógyszer hatására (nap)	Átlagos tumortömeg a 10. napon (tarto- mány)	% T/C Tömeg	A tumor 1000 mg tömegének eléré- séhez szükséges átlagos idő (tar- tomány)	Gyara- podás- késés napok- ban	Log puszt- ulás	Tumor- mentes a 155. na- pon	Aktivitás mérték
1.	nincs	–	0	+10,4 %	8	–	1533 (334-3043)	–	9,5 (7-12)	–	–	0/5	–
2.	R-22c	qd 1-4	260	-22,9 %	6	5/5 (6,6,7,7,7)	toxikus	toxikus	toxikus	toxikus	toxi- kus	0/5	toxikus
3.	R-22c	1,3,5,7	260	-8,3 %	9	0/5	63 (0-75)	4 %	15,3 (14-21,5)	5,8	1,7	0/5	++
4.	R-22c	1,3,5,7	160	+6,4 %	8	0/5	138 (0-396)	9 %	14,2 (12,5-16,7)	4,7	1,4	1/5	++
5.	R-22b	qd-1-5	250	-22,9 %	8	0/5	0 (0-138)	0 %	16,5 (13,5-18)	7,0	2,1	0/5	+++
6.	R-22b	1,3,5,7	200	0 %	8	0/5	75 (0-171)	5 %	15,3 (14-17)	5,8	1,7	0/5	++
7.	R-22b	1,3,5,7	120	+6,1 %	8	0/5	486 (63-509)	32 %	12 (11,5-14)	2,5	0,8	0/5	+
11.	Adriami- cin	1,5	15	0 %	8	1/5 (60)	0 (mind nulla)	0 %	21,5 (17-27,5)	12,0	3,6	0/5	++++ toxikus

qd:

7. TÁBLÁZAT

A 22c és 22b vegyület R-enantiomerjeinek értékelése kifejezett pankreászvezeték adenokarcinóma 03-mal szemben nőstény BDF1 egerekben														
A #. ket- rec	Ható- anyag	Az injekciók beadásának rendje na- pokban (ada- golási út)	Össz- -dózis mg/kg	% Testtö- megválto- zás a 6. és 24. nap kö- zött	Pusztu- lás gyógy- szer ha- tására (napok)	Átlagos tumortömeg a 24. napon (tartomány)	% T/C	A tumor 1000 mg- os tömegének el- éréséhez szüksé- ges átlagos idő (tartomány)	Gyara- podáské- sés na- pokban	Log pusztu- lás	PR	CR	Tumor- mentes a 157. na- pon	Aktivi- tás mérték
1.	nincs	–	0	+14,1 %	–	2259 (1500-3919)	–	16,5 (15-21)	–	–	0/6	0/6	0/6	–
2.	R-22b	6,9,12,15,18, 21,24 (IV)	560	+3,7 %	0/7	320 (183-523)	14,1%	34 (26-36)	17,5	2,3	2/7	0/7	0/7	+++
3.	R-22b	6,9,12,15,18, 21,24 (IV)	350	+8,8 %	0/6	658 (235-867)	29,1%	28 (23-34)	11,5	1,5	1/6	1/6	0/6	++
4.	R-22b	6,9,12,15,18, 21,24 (IV)	217	+10,4 %	0/6	1722 (905-2355)	76,2%	20 (16-24,5)	3,5	0,5	0/6	0/6	0/6	–
5.	R-22b	6,9,12,15,18, 21,24 (IV)	592,8	+3,5 %	0/5	1105 (0-1323)	48,9%	23 (23->43)	6,5	0,9	1/5	1/5	1/5	+
12.	R-22b	6,9,12,15,18, 21,24 (IV)	370,5	+10,3	0/5	1868 (0-2148)	82,7%	19,5 (17,5->43)	3,0	0,4	0/5	0/5	0/5	–
13.	R-22c	6,9,12,15,18, 21,24 (IV)	480	+5,9 %	0/4	63 (0-196)	2,8%	40 (35,5->43)	23,5	3,1	3/4	3/4	0/4	++++
8.	Adriami- cin	6,14	15	+5,4 %	0/5	383 (189-400)	17,0%	34 (28-35)	17,5	2,3	1/5	1/5	0/5	+++

IV : intravénásan

8. TÁBLÁZAT

XK-469 R-enantiomer és 22c és 22b vegyületek R-enantiomerjeinek értékelése előrehaladott stádiumú bél-karcinóma-26-tal szemben nőstény Balb/c egerekben												
A #.	Ható- anyag	Az injekciók beadá- sának rendje napok- ban (mind intravénásan adagolt)	Össz- -dózis mg/kg	% Testtö- megváltozás a mélypontnál (a mélypont napja)	Pusztulás gyógy- szer ha- tására	A tumor 700 mg-os tömegének eléré- séhez szükséges át- lagos idő (tartomány)	Gyarapo- dáskésés napokban	Log puszt- ulás	PR	CR	Tumor- mentes a 156. na- pon	Aktivitás mérték
1.	nincs	–	0	-9,0 % (11)*	–	13 (11,5-16,5)	–	–	0/6	0/6	0/6	–
3.	22b (R)	6,8,10,13,15	250	-6,2 % (16)	0/6	21 (15,5-48)	8	1,4	1/6	1/6	0/6	++
5.	22c (R)	6,8,10,13,15	250	-8,1 % (17)	0/6	3/6 tumormentes	3/6 tumor- mentes	>3,5	3/6	3/6	3/6	++++
6.	XK-469-R	6,8,10,14,16	400	-8,1 % (13)	0/6	18 (15-20)	5	0,9	0/6	0/6	0/6	+
7.	XK-469-R	6,8,10,13,15	250	-4,0 % (13)	0/6	13 (11,5-20)	nincs	nincs	0/6	0/6	0/6	–
8.	Citoxán	6,10	220	-9,4 % (12)	0/5	14 (12-15)	1	0,2	0/5	0/5	0/5	–

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Egy (I) általános képletű vegyület – a képletben Y jelentése F, Cl, Br, metil- vagy metoxicsoport –, valamint gyógyászati szempontból elfogadható sói.
2. Az 1. igénypont szerinti vegyület, amelyben Y jelentése fluoratom.
3. Az 1. igénypont szerinti vegyület, amelyben Y jelentése klóratom.
4. Az 1. igénypont szerinti vegyület, amelyben Y jelentése brómatom.
5. Az 1. igénypont szerinti vegyület, amelyben Y jelentése -OMe.
6. Az 1. igénypont szerinti vegyület, amelyben Y jelentése metilcsoport.
7. Az 1 – 6. igénypontok bármelyike szerinti vegyület, amelyben a metilcsoportot hordozó szénatom (R) konfigurációjú.
8. Az 1 – 6. igénypontok bármelyike szerinti vegyület, amelyben a metilcsoportot hordozó szénatom (S) konfigurációjú.
9. Az 1. igénypont szerinti vegyület, amely 2-[4-(7-klórkinolin-2-iloxi)fenoxi]-propánsav.
10. Az 1. igénypont szerinti vegyület, amely (R)- 2-[4-(7-klórkinolin-2-iloxi)fenoxi]propánsav.
11. Az 1 – 10. igénypontok bármelyike szerinti vegyületet és gyógyászati szempontból elfogadható hígító- vagy hordozóanyagot tartalmazó készítmény.
12. Az 1 – 10. igénypontok bármelyike szerinti vegyület gyógyászati terápiában való alkalmazásra.
13. Az 1 – 10. igénypontok bármelyike szerinti vegyület alkalmazása emlősökben rák kezelésére szolgáló gyógyszer előállítására.
14. Terápiás eljárás rák kezelésére emlősökben, **azzal jellemezve**, hogy az ilyen kezelésre szoruló emlősnek az 1 – 10. igénypontok bármelyike szerinti vegyületet adagoljuk.

A bejelentő helyett
a meghatalmazott:

DANUBIA

Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.

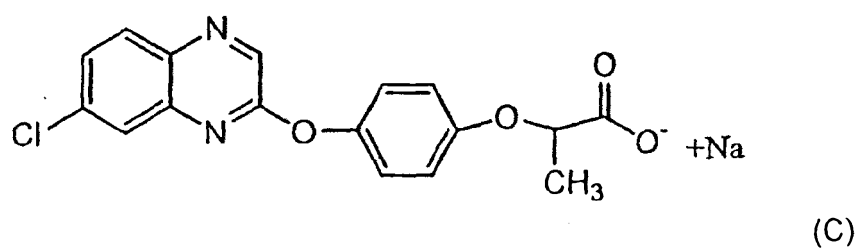
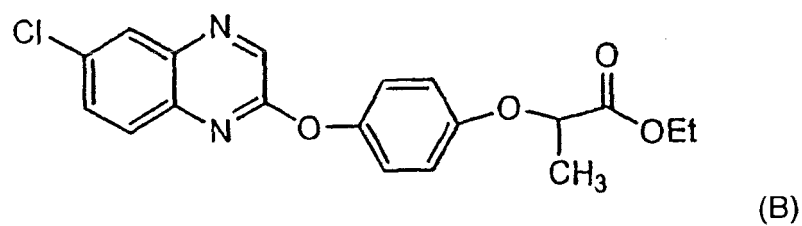
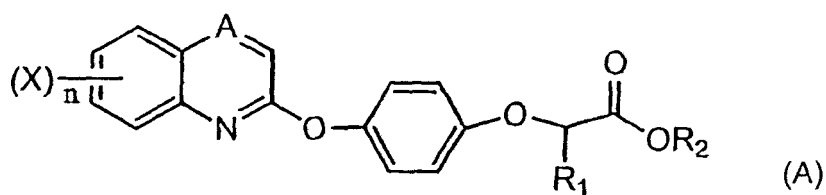
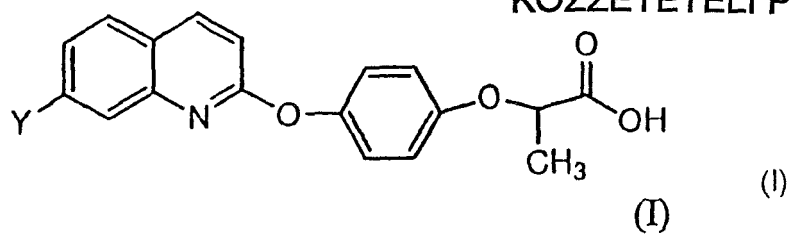
Válas

Válas Györgyné dr.
szabadalmi ügyvivő

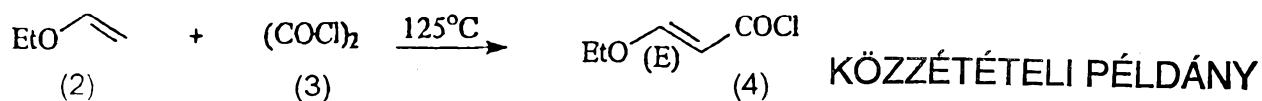
3. oldal a 22. oldal

2004. 05. 24. PK

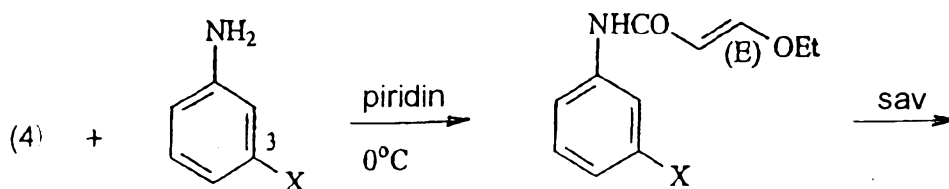
KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



1. reakcióvázlat

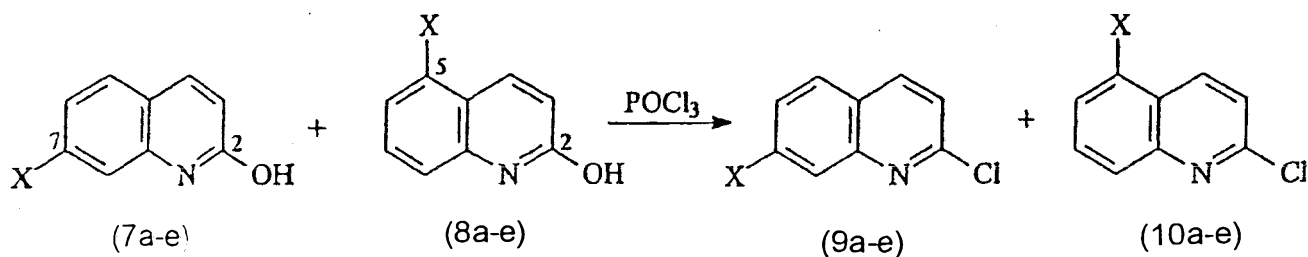


KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY

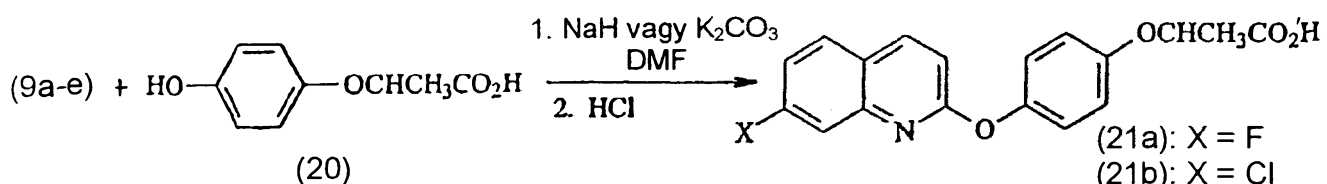


(5a): X = F
 (5b): X = Cl
 (5c): X = Br
 (5d): X = CH₃
 (5e): X = CH₃O

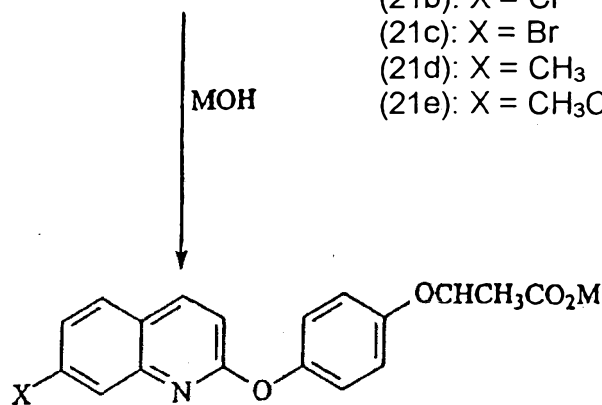
(6a): X = F
 (6b): X = Cl
 (6c): X = Br
 (6d): X = CH₃
 (6e): X = CH₃O



2. reakcióvázlat

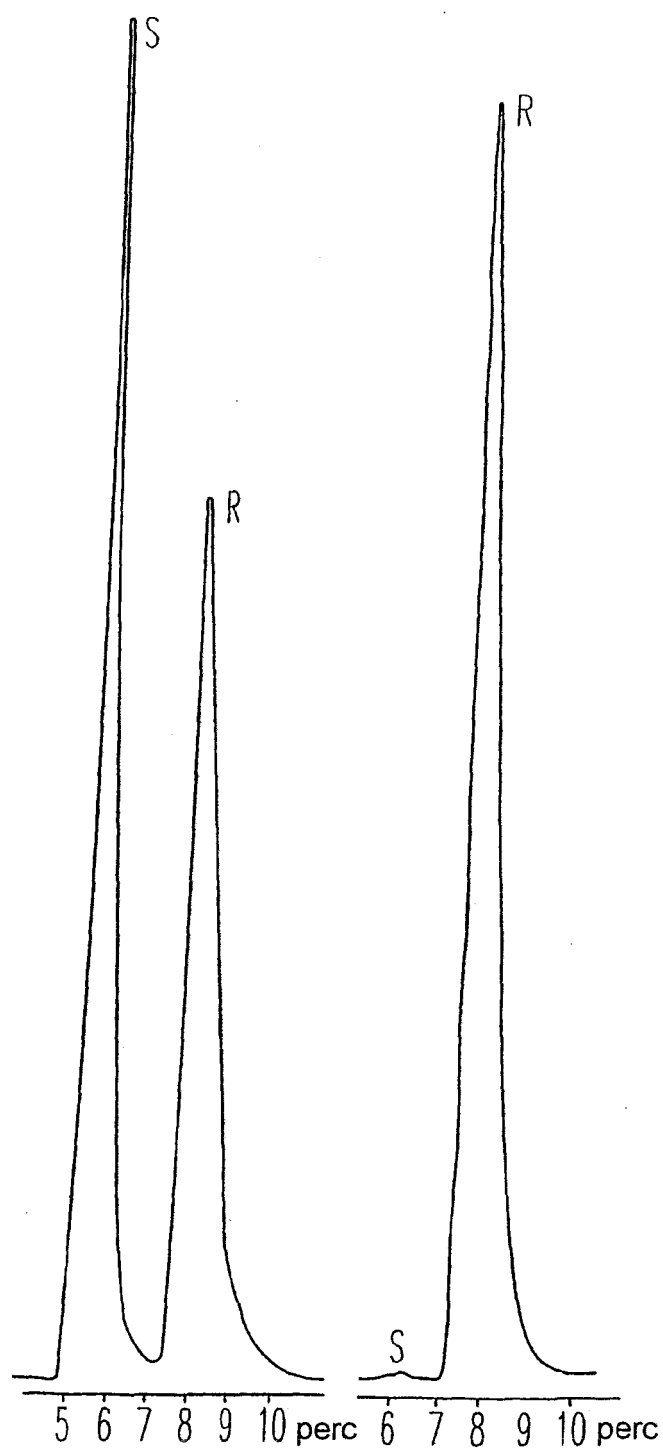


(21a): X = F
 (21b): X = Cl
 (21c): X = Br
 (21d): X = CH₃
 (21e): X = CH₃O



(22a-e)
 M = Na, K, Li, Rb, Cs, 1/2 Ca, 1/2 Mg

KÖZZÉTÉTELI PÉLDÁNY



1. ábra